

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2008 年 5 月 15 日 (15.05.2008)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 2008/056596 A1

## (51) 国際特許分類:

C08G 69/48 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 31/787 (2006.01) C08G 69/10 (2006.01)  
A61P 31/12 (2006.01) C08G 69/40 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2007/071305

(22) 国際出願日: 2007 年 11 月 1 日 (01.11.2007)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

## (30) 優先権データ:

特願2006-300361 2006 年 11 月 6 日 (06.11.2006) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本  
本化薬株式会社 (NIPPON KAYAKU KABUSHIKIKAISHA) [JP/JP]; 〒1028172 東京都千代田区富士見  
一丁目 1 1 番 2 号 Tokyo (JP).

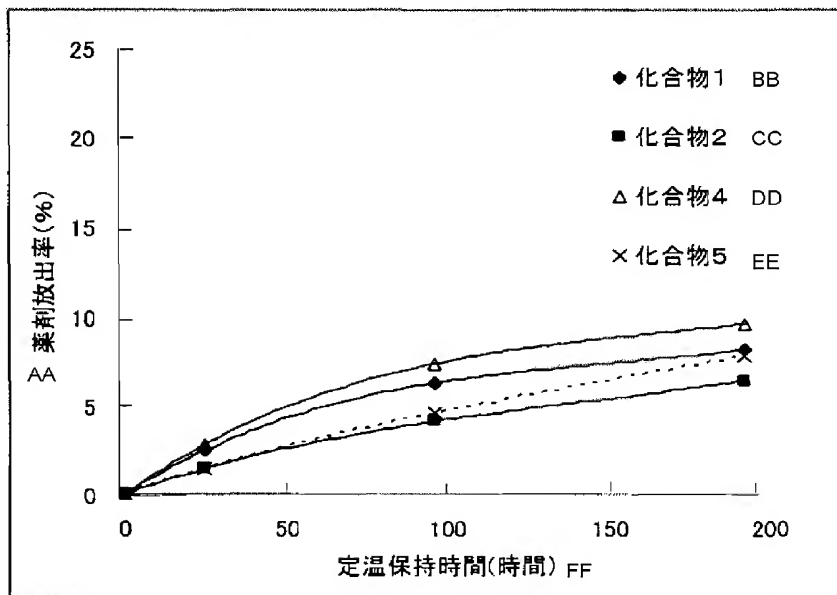
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 山本 啓一郎  
(YAMAMOTO, Keiichiro) [JP/JP]; 〒1158588 東京都  
北区志茂 3-3-1-12 日本化薬株式会社 医薬研  
究所内 Tokyo (JP). 高塩 一俊 (TAKASHIO, Kazutoshi)  
[JP/JP]; 〒1158588 東京都北区志茂 3-3-1-12 日  
本化薬株式会社 医薬研究所内 Tokyo (JP).(74) 代理人: 川口 義雄, 外 (KAWAGUCHI, Yoshio et al.);  
〒1020094 東京都千代田区紀尾井町 7 番 1 号 上智紀  
尾井坂ビル 川口国際特許事務所 Tokyo (JP).(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が  
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH,

[続葉有]

(54) Title: POLYMERIC DERIVATIVE OF NUCLEIC ACID METABOLIC ANTAGONIST

(54) 発明の名称: 核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体



AA DRUG RELEASE RATE (%)

BB COMPOUND 1

CC COMPOUND 2

DD COMPOUND 4

EE COMPOUND 5

FF TIME OF RETENTION AT CONSTANT TEMPERATURE (HOURS)

## (57) Abstract: [PROBLEMS]

A derivative of a nucleic acid metabolism antagonist is demanded which can show a high therapeutic effect at a low dose. [MEANS FOR SOLVING PROBLEMS] Disclosed is a polymeric derivative of a nucleic acid metabolism antagonist, which is characterized by comprising a polymeric compound having a polyethylene glycol moiety and a polymer moiety having a carboxyl group in a side chain and a nucleoside derivative which can act as a nucleic acid metabolism antagonist, wherein the carboxyl group in the side chain of the polymeric compound is bound to a hydroxyl group in the nucleoside derivative via an ester bond. Also disclosed is a method for producing the polymeric derivative.

(57) 要約: 【課題】低投与量で治療効果の高い核酸系代謝拮抗剤の誘導体が望まれている。【解決手段】ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化

合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤であるヌクレオシド誘導体の水酸基とがエステル結合

[続葉有]

WO 2008/056596 A1



BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,

KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

## 明 細 書

### 核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体

#### 技術分野

[0001] 本発明は、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体、その用途及びその製造法に関する。

#### 背景技術

[0002] 悪性腫瘍あるいはウイルス性疾患の治療を目的として種々の核酸系代謝拮抗剤の開発が行なわれ、抗腫瘍剤(抗癌剤)としてはシタラビン(cytarabine)、ゲムシタビン(gemcitabine)、ドキシフルリジン(doxifluridine)、アザシチジン(azacitidine)、デシタビン(decitabine)、ネララビン(nelarabine)等が、抗ウイルス剤としてはザルシタビン(zalcitabine)、ラミブジン(lamivudine)等が臨床で使用されている。

[0003] しかし、これら核酸系代謝拮抗剤は強いin vitro活性を示すにもかかわらず、生体内での代謝・排泄を受けやすいために本来の薬剤が持つ薬効を十分に発揮できなかったり、あるいは高投与量を必要とするものが多い。例えば、ゲムシタビンはin vitroではパクリタキセルやドキソルビシン等の抗癌剤に匹敵する強い細胞増殖抑制活性を有するのに対し、臨床においては体表面積あたり1回1000mg/m<sup>2</sup>の高投与が必要である。これは、2'-デオキシシチジンの代謝酵素であるシチジン脱アミノ化酵素によって塩基の4位アミノ基が代謝・失活されることにより、in vivo利用率が低くなるためと考えられている(非特許文献1参照)。

[0004] ポリマーに薬剤を結合させることにより、生体内における薬物動態が改善し治療効果の向上がみられることがある。非特許文献2には、平均分子量約30000のポリグルタミン酸類とシタラビンとを結合させた高分子誘導体が記載されている。しかしながら、薬剤の高分子誘導体には免疫反応により過敏反応を示す場合があり、その様な場合には薬剤として繰返し投与ができない。

[0005] 特許文献1にはポリエチレングリコール類にシチジン系誘導体を結合させた高分子誘導体が、非特許文献3にはポリエチレングリコール類の両末端にアスパラギン酸を分枝状に置換させそれにシタラビンを結合させた高分子誘導体が記載されている。

さらに、特許文献5にはポリエチレングリコール鎖の末端にアミノ酸を用い分岐させ、その各分岐がベンジル脱離反応を受けた後に薬剤を放出する構造を持つ高分子誘導体が記載されている。しかし、これらすべての高分子誘導体は、血漿中での加水分解速度が、長くても数10時間でそれほど遅くならず、高分子誘導体そのものが、生体内に長時間滞留し、長時間にわたって内包化合物を放出しない。さらに、これら高分子誘導体は、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中の加水分解速度と血漿中の加水分解速度の差が大きく、加水分解反応が生体内の酵素に大きく依存するため、臨床上における治療効果が患者の個体差に大きく影響される可能性がある。

[0006] 特許文献2にはポリエチレングリコール類とポリアスパラギン酸が縮合したブロック型ポリマーに薬剤を結合した分子がミセルを形成し医薬となることが記載されている。又、特許文献3にはポリエチレングリコール類とポリグルタミン酸が縮合したブロック型ポリマーのグルタミン酸側鎖カルボキシル基に抗癌性物質を結合させた高分子が記載されている。しかしながら、これらには結合する薬剤として核酸系代謝拮抗剤に関する記載はない。

[0007] さらに、特許文献4にはポリエチレングリコールとポリカルボン酸との重合体のカルボキシル基と、フェノール性カンプトテシン類のフェノール性水酸基とを、エステル縮合した水溶性高分子誘導体が癌化学療法に適していることが記載されているが、これらは薬剤の結合様式がフェノールとカルボキシル基が結合したエステルであり、1級アルコールや2級アルコールとカルボキシル基が結合したエステルではない。また、これらにも結合する薬剤として核酸系代謝拮抗剤に関する記載はない。

[0008] 特許文献1:特表2003-524028号公報

特許文献2:特許第2694923号公報

特許文献3:特開平5-955号公報

特許文献4:国際公開番号WO2004/039869号パンフレット

特許文献5:特表2004-532289号公報

[0009] 非特許文献1:「キャンサー・サイエンス」、日本癌学会発行、2004年、第95巻、105-111頁(Cancer Science、Japanese Cancer Association、Vol. 95、p. 105-111(2004))

非特許文献2:「キャンサー・リサーチ」(米国)、米国癌学会発行、1984年、第44巻、25-30頁(Cancer Research、American Association for Cancer Research、Vol. 44、p. 25-30(1984))

非特許文献3:「ジャーナル オブ コントロールド リリース」(英国)、エルゼヴィア発行、2002年、第79巻、55-70頁(Journal of Controlled Release、Elsevier、Vol. 79、p. 55-70(2002))

## 発明の開示

### 発明が解決しようとする課題

- [0010] 本発明の目的は、低投与量でより高い効果を有し新規な抗癌剤又は抗ウイルス剤となる核酸系代謝拮抗剤を提供することにある。

### 課題を解決するための手段

- [0011] 本発明者らは前記課題を解決するために鋭意研究を行なった結果、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体、特にポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤の水酸基とがエステル結合していることを特徴とする核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を見出した。

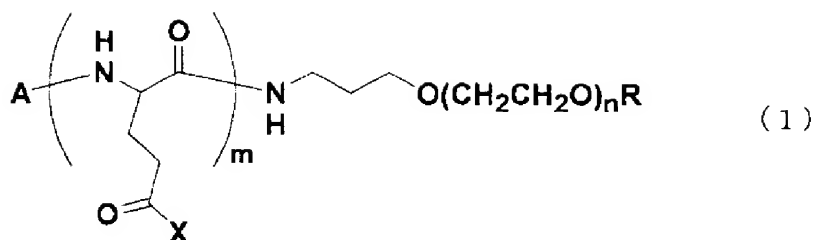
- [0012] 即ち、本発明は次の(1)～(16)に関する。

(1)ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤の水酸基とがエステル結合していることを特徴とする核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(2)側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸誘導体である上記(1)記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(3)核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体が下記一般式(1)

- [0013] [化1]



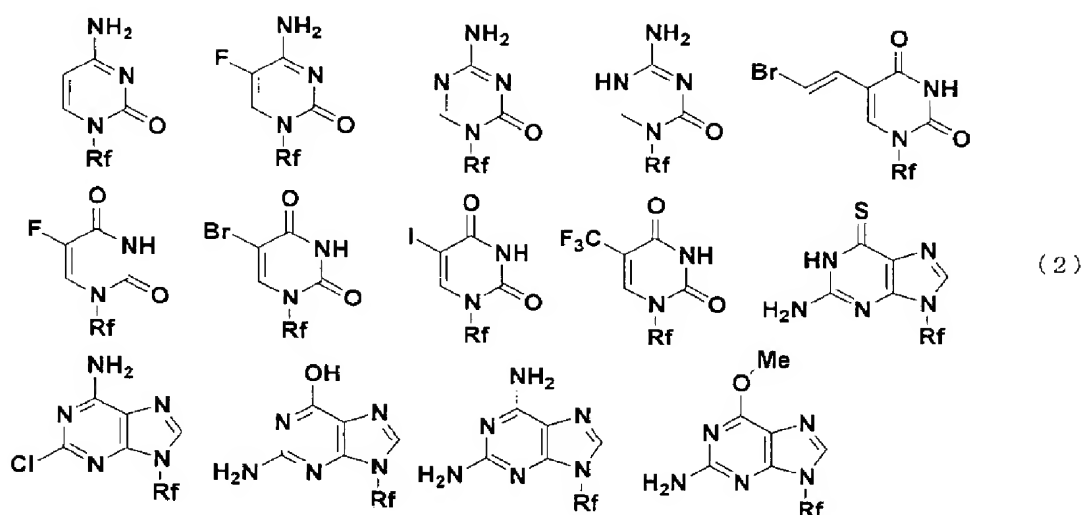
[式中、Rは水素原子又はC1～C6アルキル基を示し、Aは水素原子、C1～C6アシル基又はC1～C6アルコキシカルボニル基を示し、mは平均値で3～200、nは平均値で5～2000を示し、Xは核酸系代謝拮抗剤残基、水酸基、疎水性置換基、及び－N(R1)CONH(R2) (R1、R2は同一でも異なってもよく3級アミノ基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基)からなる群から選ばれ、核酸系代謝拮抗剤残基及び－N(R1)CONH(R2)を含む基である上記(1)又は(2)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(4)mのうち5～95%はXが核酸系代謝拮抗剤残基、0～95%はXが水酸基、0～80%はXが疎水性置換基、5～80%はXが－N(R1)CONH(R2)である上記(3)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(5)mのうち5～70%はXが核酸系代謝拮抗剤残基、5～70%はXが水酸基、20～70%はXが疎水性置換基、5～70%はXが－N(R1)CONH(R2)である上記(3)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

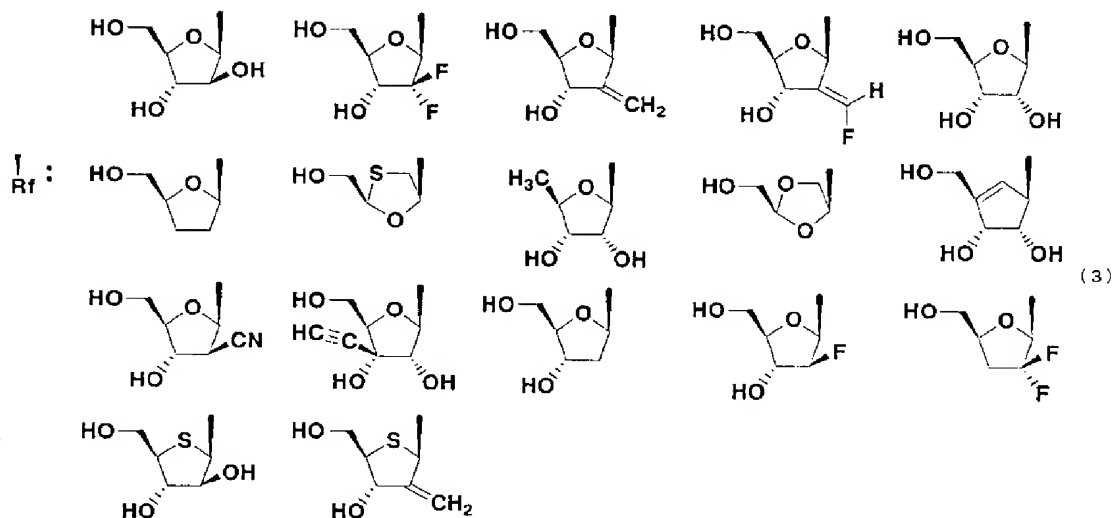
(6)RがC1～C4アルキル基であり、AがC2～C4アシル基であり、mが平均値で5～100、nが平均値で50～1000であり、核酸系代謝拮抗剤残基が式(2)：

[0014] [化2]



[式中、-Rfは、式(3)：

[0015] [化3]



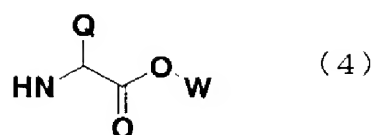
の置換基群より選ばれる基を示す]

で表されるいずれかの核酸系代謝拮抗剤の残基である上記(3)～(5)のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(7)Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、核酸系代謝拮抗剤残基がゲムシタビン又はドキシフルリジン残基である上記(6)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(8)疎水性置換基が一般式(4)

[0016] [化4]



[式中、Qは中性アミノ酸の側鎖を表し、WはC1～C6アルキル基又はベンジル基を示す]

で表される $\alpha$ -アミノ酸誘導体である上記(3)～(7)のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(9)Qがイソプロピル基又はベンジル基であり、Wがベンジル基である上記(8)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(10)疎水性置換基が一般式(5)：

[0017] [化5]



[式中、Tはフェニル基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基を示す]

で表される基である、上記(3)～(7)のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(11)Tがベンジル基、3-フェニルプロピル基、4-フェニルブチル基又は5-フェニルペンチル基である、上記(10)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(12)Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、核酸系代謝拮抗剤残基がゲムシタビン残基であり、疎水性置換基が4-フェニルブトキシ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基、 $-\text{N}(\text{R}1)\text{CONH}(\text{R}2)$ がイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である、上記(3)に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

(13)ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤とを有機溶媒中カルボジイミド系の縮合剤を用いてエステル結合させることで得られる、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。



(14) 上記(1)～(13)のいずれか1項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分として含む抗腫瘍剤。

(15) 前記(1)～(13)のいずれか1項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分として含む抗ウイルス剤。

(16) ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸代謝拮抗剤のヌクレオシド誘導体とを、有機溶媒中カルボジイミド系の縮合剤を用いてエステル結合させることを特徴とする前記(1)～(12)のいずれか1項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の製造法。

### 発明の効果

[0018] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤の水酸基とがエステル結合し、且つ何らかの疎水性残基が結合した構造を有することを特徴とし、生体内において血中に長時間滞留し、核酸系代謝拮抗剤を長時間徐放することができ、低投与量で治療効果に優れる抗癌剤又は抗ウイルス剤として有用である。本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、その構造上、水中で水と親和性の高いポリエチレングリコール類部位を外殻、疎水性残基や核酸系代謝拮抗剤を有する側鎖を内殻とした凝集体を形成すると考えられる。したがって、酵素非依存的に薬剤を徐放する性質を有し、このため治療効果に対する患者の個体差の影響が少ない誘導体となり得る。又、本発明の高分子誘導体は選択的に患部に集積し、より高い効果で副作用が少ない薬剤となる。

### 発明を実施するための最良の形態

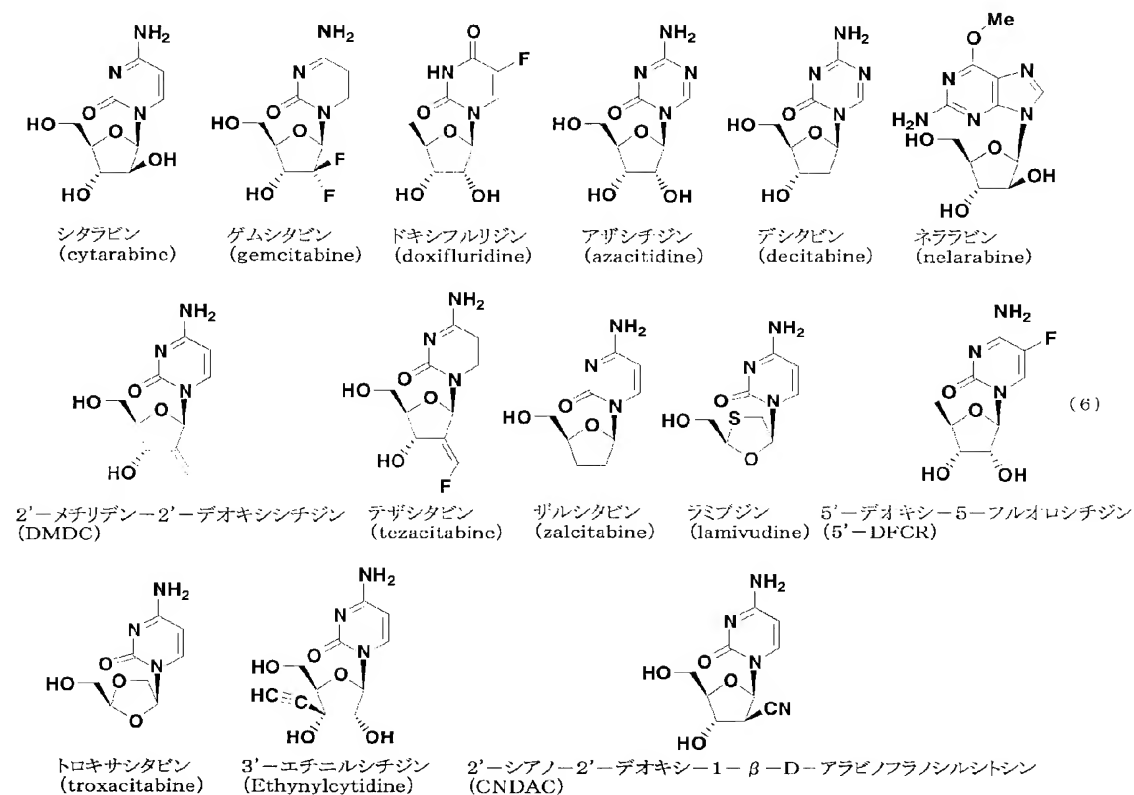
[0019] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤の水酸基とを有機溶媒中カルボジイミド系の縮合剤を用いて脱水縮合して得られることを特徴とする。

[0020] 本発明における「核酸系代謝拮抗剤」とは、抗腫瘍活性又は抗ウイルス活性を有し、ヌクレオシド誘導体の構造を有する化合物である。より具体的には、「核酸系代謝

拮抗剤」とは、核酸塩基部分が上記式(2)から選択されるいずれかであり、それに結合している基(Rf)が上記式(3)から選択されるいずれかである化合物である。

[0021] 更に具体的には、例えば、本発明の核酸系代謝拮抗剤として、下記式(6)に構造を示すシタラビン(cytarabine)、ゲムシタビン(gemcitabine)、ドキシフルリジン(doxifluridine)、アザシチジン(azacitidine)、デシタビン(decitabine)、ネララビン(nelarabine)、2'-メチリデン-2'-デオキシシチジン(DMDC)、テザシタビン(tezacitabine)、ザルシタビン(zalcitabine)、ラミブジン(lamivudine)、5'-デオキシ-5-フルオロシチジン(5'-DFCR)、トロキサシタビン(troxacitabine)、3'-エチニルシチジン(Ethynylcytidine)又は2'-シアノ-2'-デオキシ-1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(CNDAC)等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0022] [化6]



[0023] 本発明において「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」における側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分としては、カルボキシル基を有する側鎖がポリマー主鎖から枝分かれしたグ

ラフト型ポリマーやポリカルボン酸ポリマーが縮合したブロック型ポリマー等が挙げられる。

- [0024] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がグラフト型ポリマーである前記の高分子化合物としては、例えば、特開平11-279083号公報に記載のポリエチレングリコールとアクリル酸類の縮合物とアクリル酸類あるいは無水マレイン酸等とを共重合反応に供し、必要に応じて加水分解反応に付すこと等によって得られるポリマー等が挙げられる。
- [0025] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がブロック型ポリマーである前記の高分子化合物としては、末端官能基を有するポリエチレングリコール類と末端に官能基を有するポリカルボン酸を結合した化合物や、特許文献3に記載されている、末端にアミノ基を有するポリエチレングリコール類で重合を開始するアミノ酸活性化物の重合反応によって得られる化合物等が挙げられる。
- [0026] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマーとしては、例えば、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリリンゴ酸又はポリグルタミン酸等が挙げられ、好ましくはポリグルタミン酸である。
- [0027] 本発明における「ポリエチレングリコール類」としては、両末端又は片末端が修飾されたポリエチレングリコール誘導体でもよく、その場合、両末端の修飾基は同一でも異なってもよい。末端の修飾基としては、置換基を有していてもよいC1～C6アルキル基が挙げられ、好ましくは置換基を有していてもよいC1～C4アルキル基である。
- [0028] 置換基を有していてもよいC1～C6アルキル基におけるC1～C6アルキル基としては直鎖、分岐鎖又は環状のC1～C6アルキル基が挙げられ、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、2-メチルブチル基、ネオペンチル基、1-エチルプロピル基、ヘキシル基、4-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、2-メチルペンチル基、1-メチルペンチル基、3, 3-ジメチルブチル基、2, 2-ジメチルブチル基、1, 1-ジメチルブチル基、1, 2-ジメチルブチル基、1, 3-ジメチルブチル基、2, 3-ジメチルブチル基、2-エチルブチル基、シクロプロピル基、シクロペンチル基又

はシクロヘキシル基等が挙げられ、好ましくはC1～C4アルキル基であり、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、s-ブチル基又はt-ブチル基等であり、特に好ましくはメチル基、エチル基、n-プロピル基又はイソプロピル基である。

[0029] 置換基を有してもよいC1～C6アルキル基の置換基としては特に限定されない。例えば、アミノ基、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基等が挙げられ、好ましくはアミノ基である。

[0030] 本発明においては両末端が修飾されたポリエチレングリコール誘導体が好ましく、具体的には、一方の末端がC1～C6アルキル基で他方の末端がアミノC1～C6アルキル基であるポリエチレングリコール誘導体が挙げられ、一方の末端がC1～C4アルキル基で他方の末端がアミノC1～C4アルキル基であるポリエチレングリコール誘導体が好ましく、特に一方の末端がメチル基で他方の末端がアミノプロピル基であるポリエチレングリコール誘導体が好ましい。

[0031] 本発明における「ポリエチレングリコール類」の重量平均分子量としては200～500000程度であり、好ましくは500～100000程度、より好ましくは2000～50000程度である。

[0032] 本発明における「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」として好ましくはブロック型ポリマーであり、より好ましくはポリエチレングリコール類と側鎖にカルボキシル基を有するポリマーのブロック共重合体である。

[0033] ポリエチレングリコール類と側鎖にカルボキシル基を有するポリマーのブロック共重合体としては、例えば、アルコキシポリエチレングリコール-ポリアクリル酸、アルコキシポリエチレングリコール-ポリメタクリル酸又はアルコキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸等が挙げられ、好ましくはメトキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸である。

[0034] 本発明における「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」の1分子あたりの平均カルボキシル基数としては、3～200個程度であり、好ましくは5～100個程度、より好ましくは10～60個程

度である。

- [0035] 本発明における「ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物」の重量平均分子量としては500～500000程度であり、好ましくは2000～100000程度であり、より好ましくは3000～50000程度である。
- [0036] 本発明において、ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物にエステル結合している核酸系代謝拮抗剤の結合量は、1個～カルボキシル基の総数の範囲内であれば特に限定されず、生体内に投与した際に薬効を示す量であればよい。好ましくはポリマー部分の総カルボキシル基数の5～100%、より好ましくは5～70%である。
- [0037] 上記結合量は、本発明化合物の紫外線吸収スペクトルの強度から求めることができる。又、本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体をアルカリ加水分解することにより遊離する核酸系代謝拮抗剤を、例えば、高速液体クロマトグラフィー等で定量することによっても求めることができる。
- [0038] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の代表的な化合物として、前記一般式(1)[式中、Rは水素原子又はC1～C6アルキル基を示し、Aは水素原子、C1～C6アシル基又はC1～C6アルコキシカルボニル基を示し、mは平均値で3～200、nは平均値で5～2000を示し、Xは核酸系代謝拮抗剤残基、水酸基、疎水性置換基、及び $-N(R1)CONH(R2)$  (R1、R2は同一でも異なってもよく3級アミノ基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基)からなる群から選ばれる基であって、核酸系代謝拮抗剤残基及び $-N(R1)CONH(R2)$ を含む基(すなわち核酸系代謝拮抗剤残基、水酸基、疎水性置換基、及び $-N(R1)CONH(R2)$ からなる群から2種以上選ばれる基であって、核酸系代謝拮抗剤残基及び $-N(R1)CONH(R2)$ が必須であり、その他が任意である基)を示し、好ましくは、mのうち5～95%はXが核酸系代謝拮抗剤残基、0～95%はXが水酸基、0～80%はXが疎水性置換基、5～80%はXが $-N(R1)CONH(R2)$ である]で表される化合物が挙げられる。
- [0039] 一般式(1)中、RにおけるC1～C6アルキル基は上記のアルキル基と同じ意味であり、好ましい基も同様である。

- [0040] 一般式(1)中、AにおけるC1～C6アシル基は、例えば、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基、イソバレリル基、ピバロイル基又はヘキサノイル基が挙げられ、好ましくはC2～C4アシル基、例えば、アセチル基又はプロピオニル基であり、より好ましくはアセチル基である。
- [0041] 一般式(1)中、AにおけるC1～C6アルコキシカルボニル基は、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基、n-ブトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ペントキシカルボニル基、ヘキシロキシカルボニル基、シクロプロポキシカルボニル基、シクロペンチロキシカルボニル基又はシクロヘキシロキシカルボニル基が挙げられ、好ましくはメトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基、ブトキシカルボニル基又はtert-ブトキシカルボニル基であり、より好ましくはエトキシカルボニル基又はtert-ブトキシカルボニル基である。
- [0042] 一般式(1)中、mは平均値で3～200であり、好ましくは5～100程度であり、より好ましくは10～60程度である。
- [0043] 一般式(1)中、nは平均値で5～2000であり、好ましくは50～1000程度であり、より好ましくは100～300程度である。
- [0044] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の一般式(1)において、Xが核酸系代謝拮抗剤残基であるグルタミン酸誘導体、Xが水酸基であるグルタミン酸誘導体、Xが疎水性置換基であるグルタミン酸誘導体、及びXが $-N(R1)CONH(R2)$ であるグルタミン酸誘導体がランダムに結合していても、Xの種類ごとにブロックを形成して結合していてもよい。一般式(1)中、Xにおける核酸系代謝拮抗剤として特に好ましくは、ゲムシタビンが挙げられる。
- [0045] 一般式(1)のXにおける疎水性置換基としては種々の置換基が挙げられ、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の薬効発現に支障をきたさない限り特に限定されない。好ましくは上記一般式(4)[式中、Qは中性アミノ酸の側鎖を表し、WはC1～C6アルキル基又はベンジル基を示す]で表される $\alpha$ -アミノ酸誘導体又は上記一般式(5)[式中、Tはフェニル基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基を示す]で表される基が挙げられる。

- [0046] 一般式(4)のQにおいて中性アミノ酸の側鎖としては、例えば、水素原子、メチル基、イソプロピル基、イソブチル基、s-ブチル基、ベンジル基、ヒドロキシメチル基、1-ヒドロキシエチル基、カルバモイルメチル基、2-カルバモイルエチル基等の天然型アミノ酸残基又はtert-ブトキシメチル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシカルボニルメチル基、2-ベンジルオキシカルボニルエチル基等のアミノ酸残基誘導体等が挙げられ、好ましくはイソプロピル基、イソブチル基、s-ブチル基、ベンジル基、ベンジルオキシメチル基、ベンジルオキシカルボニルメチル基、2-ベンジルオキシカルボニルエチル基等であり、より好ましくはイソプロピル基、ベンジル基、ベンジルオキシメチル基又は2-ベンジルオキシカルボニルエチル基であり、特に好ましくはイソプロピル基又はベンジル基である。
- [0047] 一般式(4)のWにおけるC1～C6アルキル基としては前記のアルキル基と同じ基が挙げられ、好ましい基も同様である。
- [0048] 一般式(5)のTにおけるC1～C6アルキル基は、前記のアルキル基と同じ意味であり、好ましい基も同様である。一般式(5)で表される基としては、例えば、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、tert-ブトキシ基、n-ペンチルオキシ基、n-ヘキシルオキシ基、シクロプロピルオキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基、シクロヘキシルメトキシ基、ベンジルオキシ基、2-フェネチルオキシ基、3-フェニルプロポキシ基、4-フェニルブトキシ基、5-フェニルペンチルオキシ基又はジフェニルメトキシ基等が挙げられる。
- [0049] 上記疎水性置換基としては、例えば、メチルアミノ基、エチルアミノ基、n-プロピルアミノ基、イソプロピルアミノ基、n-ブチルアミノ基、イソブチルアミノ基、n-ペンチルアミノ基、n-ヘキシルアミノ基、シクロプロピルアミノ基、シクロペンチルアミノ基、シクロヘキシルアミノ基、シクロヘキシルメチルアミノ基、ジシクロヘキシルメチルアミノ基、アニリノ基、ベンジルアミノ基、2-フェネチルアミノ基、3-フェニルプロピルアミノ基、4-フェニルブチルアミノ基又はジフェニルメチルアミノ基等のアミノ基も挙げられる。
- [0050] 一般式(1)のXにおける疎水性置換基として特に好ましいのは、ベンジルオキシ基、3-フェニルプロポキシ基、4-フェニルブトキシ基、(1-ベンジルオキシカルボニル-2-メチル)プロピルアミノ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル

)エチルアミノ基であり、殊更好ましいのは、4-フェニルブトキシ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基である。

[0051] 一般式(1)のXにおける-N(R1)CONH(R2)は、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の薬効発現に支障をきたさない限り特に限定されない。好ましくは、-N(R1)CONH(R2)のR1、R2は同一でも異なってもよく3級アミノ基で置換されていてもよいC1~C6アルキル基で表される基である。より好ましくは、シクロヘキシルアミノカルボニルシクロヘキシルアミノ基、イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である。

[0052] なお、-N(R1)CONH(R2)のR1、R2において、3級アミノ基で置換されていてもよいC1~C6アルキル基のC1~C6アルキル基は、前記のアルキル基と同じ意味であり、好ましい基も同様である。

[0053] 一般式(1)中、ポリマー部分の総カルボキシル基数(mに等しい数)に対して、Xが核酸系代謝拮抗剤残基である割合は5~95%、好ましくは5~70%であり、Xが水酸基である割合は0~95%、好ましくは5~70%であり、Xが疎水性置換基である割合は0~80%、好ましくは20~70%、Xが-N(R1)CONH(R2)である割合は5~80%、好ましくは5~70%である。

[0054] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体において、核酸系代謝拮抗剤等が結合していない側鎖カルボキシル基が存在する場合、当該カルボキシル基は遊離型又はアルカリ類の塩型でもよい。遊離型で得られた場合には公知の方法あるいはそれに準じる方法によって目的とする塩に変換することができ、逆に塩で得られた場合には公知の方法あるいはそれに準ずる方法により遊離型又は目的とする他の塩に変換することができる。

[0055] アルカリ類の塩としては、例えば、リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩又はトリエチルアンモニウム塩等が挙げられる。

[0056] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体における側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分を構成する構造単位は、光学異性体が存在する場合は光学活性体でもラセミ体でも任意の割合の混合体でもよい。例えば、側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸誘導体の場合、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ



ーD-グルタミン酸、側鎖が置換されたL-グルタミン酸及び側鎖が置換されたD-グルタミン酸が任意の割合で任意の結合順で結合したポリマーでよい。

[0057] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体として特に好ましい化合物としては、例えば、以下の表1に示す化合物が挙げられる。

[0058] 表1において、各Xの下に示す「割合」とは、ポリマー部分の総カルボキシル基数(mに等しい)に対してXの各置換基が結合している割合(%)であり、おおよその値を示す。表に示した以外の残余は水酸基である。Bzlはベンジル基、Pheはフェニルアラニン、 $C_4H_8Ph$ は4-フェニルブチル基を表す。Xの核酸系代謝拮抗剤残基としては、シタラビン、ゲムシタビン、ドキシフルリジン、アザシチジン、デシタビン、ネララビン、テザシタビン、5'-デオキシ-5-フルオロシチジン、2'-デオキシ-2'-メチリデンシチジン(DMDC)、3'-エチニルシチジン、2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1-ベーター-D-アラビノフラノシルシトシン(CNDAC)、トロキサシタビン及び(ー)ベーター-L-ジオキソランシチジンの各残基が挙げられる。

[0059] [表1]

表 1

化合物 番号	R	n (平均)	m (平均)	A	X: 核酸系 代謝拮抗剤 (割合)	X: 疎水性 置換基 (割合)	X: -N(R1)CONH(R2) (割合)
1	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
2	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (10%)	Phe-OBzl (70%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (5%)
3	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (20%)	OC4H8Ph (40%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
4	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (15%)	OC4H8Ph (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
5	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ドキシフルリジン (30%)	Phe-OBzl (30%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (20%)
6	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (20%)	Phe-OBzl (55%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
7	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
8	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ゲムシタピン (20%)	OC4H8Ph (50%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
9	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	シタラピン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
10	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ドキシフルリジン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
11	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	アザシチジン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
12	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	デンタピン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
13	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ネララピン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
14	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	テザシタピン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
15	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	5'-デオキシ-5-フルオロシチジン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)

16	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	3'-エチルシチジン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
17	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1- ベータ-D-アラビノフラシルシトシン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
18	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	トロキサシタピン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
19	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	(-)-ベータ-L-ジオキソランシチジン (25%)	Phe-OBzl (45%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (15%)
20	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	シタラピン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
21	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ドキシフルリジン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
22	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	アザシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
23	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	デシタピン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
24	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	ネララピン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
25	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	テザシタピン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
26	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	5'-デオキシ-5-フルオロシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
27	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	3'-エチルシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
28	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	2'-C-シアノ-2'-デオキシ-1- ベータ-D-アラビノフラシルシトシン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
29	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	トロキサシタピン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)
30	CH <sub>3</sub>	272	26	CH <sub>3</sub> CO	(-)-ベータ-L-ジオキソランシチジン (15%)	Phe-OBzl (60%)	イソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基 (10%)

[0060] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、例えば、特許文献3記載の方法に準じて製造されたメトキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体と、核酸系代謝拮抗剤とを、溶媒中で脱水縮合剤により縮合することにより製造することができるが、特にこの製造法に限定されない。

[0061] 上記反応における溶媒としては反応が進行する限り特に限定されない。例えば、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、塩化メチレン、クロロホルム、1, 2-ジクロロエタン等のハロゲン化炭化水素類、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテル等のエーテル類、アセトニトリル、プロピオニ

トリル等のニトリル類、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン等のアミド類、1, 3-ジメチルイミダゾリジノン等のウレア類又は前記溶媒の混合溶媒等が挙げられ、好ましくはアミド類又はウレア類であり、より好ましくはジメチルホルムアミド又は1, 3-ジメチルイミダゾリジノンである。

- [0062] 上記反応における脱水縮合剤としては、核酸系代謝拮抗剤であるヌクレオシド誘導体の水酸基とカルボキシル基との縮合反応が進行する限り特に限定されない。好ましくはジシクロヘキシルカルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、1-ジメチルアミノプロピル-3-エチルカルボジイミド等のカルボジイミド系縮合剤が挙げられる。
- [0063] 脱水縮合反応の際、反応補助剤を用いてもよく、該反応補助剤としては、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール又は4-ジメチルアミノピリジン、又は2, 6-ジ-tert-ブチル-4-メチルピリジン等が挙げられる。
- [0064] 脱水縮合反応の反応温度は通常4～60℃であり、好ましくは15～50℃である。反応時間は2時間～数日であり、好ましくは4～48時間である。
- [0065] 上記反応後、必要に応じて自体公知の分離手段、例えば、減圧濃縮、溶媒抽出、結晶化、透析、クロマトグラフィー等を適宜適用して目的化合物を単離、精製することができる。
- [0066] 上記の脱水縮合反応により、Xが、核酸系代謝拮抗剤残基、水酸基、 $-N(R1)CONH(R2)$  (R1、R2は同一でも異なってもよく3級アミノ基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基)からなる群から選ばれる基からなる高分子誘導体を得られる。また、この脱水縮合反応で得られる高分子誘導体の高分子担体と核酸系代謝拮抗剤との結合様式は、カルボジイミド系縮合剤を使用することで、ほぼエステル結合となる。核酸系代謝拮抗剤によりエステル結合以外の様式の結合ができる場合があるが、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の薬効発現に支障をきたさない限り、結合様式は混合でも単独でもよい。
- [0067] Xとして $-N(R1)CONH(R2)$  (R1、R2は同一でも異なってもよく3級アミノ基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基)のみを高分子化合物担体へ導入する場合、上記の核酸系代謝拮抗剤と高分子化合物との脱水縮合反応を核酸系代謝拮抗剤非存在下で行うことによりなし得る。

- [0068] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体が疎水性置換基を有する場合、例えば、特許文献3に記載の方法に準じて製造されたメキシポリエチレングリコールーポリグルタミン酸ブロック共重合体のカルボキシル基の一部に疎水性置換基を導入して得られるポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖の未置換のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤であるヌクレオシド誘導体とを前記のように有機溶媒中で脱水縮合剤を用いて縮合して製造することができる。
- [0069] 疎水性置換基の導入は、例えば、疎水性置換基がアルコキシ基の場合には対応するアルコールと該カルボキシル基とを溶媒中脱水縮合剤により縮合(エステル化)すること、又は対応するハロゲン化アルキル等と該カルボキシル基とを溶媒中、塩基存在下で求核置換反応に供することによって為され、例えば、疎水性置換基が置換アミノ基の場合には対応するアミン類と該カルボキシル基とを溶媒中、脱水縮合剤により縮合(アミド化)させることにより製造可能である。
- [0070] 上記脱水縮合反応(エステル化反応)における溶媒としては反応が進行する限り特に限定されないが、前記のメキシポリエチレングリコールーポリグルタミン酸ブロック共重合体と核酸系代謝拮抗剤とを脱水縮合させる際に使用できる溶媒と同様な溶媒が使用でき、好ましい溶媒も同様である。脱水縮合剤としてはアルコールとカルボキシル基との脱水縮合反応が進行する限り特に限定されないが、好ましくはジシクロヘキシルカルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、1-ジメチルアミノプロピルー3-エチルカルボジイミド、カルボニルジイミダゾール、クロロギ酸イソブチル又はピバリン酸クロリドである。
- [0071] 脱水縮合反応の際、反応補助剤を用いてもよく、該反応補助剤としては、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール又は4-ジメチルアミノピリジン、又は2, 6-ジ-tert-ブチルー4-メチルピリジン等が挙げられる。
- [0072] 脱水縮合反応の反応温度は通常4~60℃であり、好ましくは15~50℃である。反応時間は2時間~数日であり、好ましくは4~48時間である。
- [0073] 上記求核置換反応における溶媒としては反応が進行する限り特に限定されないが、前記のメキシポリエチレングリコールーポリグルタミン酸ブロック共重合体と核酸系

代謝拮抗剤とを脱水縮合させる際に使用できる溶媒と同様な溶媒が使用でき、好ましい溶媒も同様である。塩基としては、例えば、炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等のアルカリ金属炭酸塩類；水素化リチウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム等のアルカリ金属水素化物類；水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ金属水酸化物類；リチウムメトキシド、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムtert-ブトキシド等のアルカリ金属アルコキシド類；トリエチルアミン、トリブチルアミン、N, N-ジイソプロピルエチルアミン、N-メチルモルホリン、ピリジン、4-(N, N-ジメチルアミノ)ピリジン、N, N-ジメチルアニリン、N, N-ジエチルアニリン、1, 5-ジアザビシクロ[4. 3. 0]ノナ-5-エン、1, 4-ジアザビシクロ[2. 2. 2]オクタン(DABCO)、1, 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]-7-ウンデセン(DBU)等の有機アミン類等が挙げられ、好ましくはアルカリ金属炭酸塩類、アルカリ金属水素化物類又は有機アミン類である。

[0074] 上記求核置換反応の反応温度は通常4～60℃であり、好ましくは室温～50℃である。反応時間は1時間～数日であり、好ましくは4～48時間である。

[0075] 上記脱水縮合反応(アミド化反応)における溶媒としては反応が進行する限り特に限定されないが、上記のメキシポリエチレングリコール-ポリグルタミン酸ブロック共重合体と核酸系代謝拮抗剤との脱水縮合に使用できる溶媒と同様な溶媒が使用でき、好ましい溶媒も同様である。脱水縮合剤としてはアミン類とカルボキシル基との縮合反応が進行する限り特に限定されないが、好ましくはジシクロヘキシルカルボジイミド、ジイソプロピルカルボジイミド、1-ジメチルアミノプロピル-3-エチルカルボジイミド、カルボニルジイミダゾール、クロロギ酸イソブチル、ピバリン酸クロリド、DMT-MM(4-(4, 6-ジメトキシ-1, 3, 5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド)、TFFH(テトラメチルフルオロホルムアミジニウム ヘキサフルオロホスフェート)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキシキノリン(EE DQ)又はBOP(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート)である。

[0076] 上記脱水縮合反応の際、反応補助剤を用いてもよく、該反応補助剤としては、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール又は4-ジメチルア

ミノピリジン、又は2, 6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルピリジン等が挙げられる。

[0077] 脱水縮合反応の反応温度は通常4～60℃であり、好ましくは室温～50℃である。

反応時間は1時間～数日であり、好ましくは4～48時間である。

[0078] なお、高分子化合物への疎水性置換基、核酸系代謝拮抗剤及び-N(R1)CONH(R2)からなる群から選ばれる基の結合順は問わないので、混合して反応させてもよいが、多官能基を有する活性本体である核酸系代謝拮抗剤の反応及び分解を回避するため、高分子化合物へ疎水性置換基を導入した後、核酸系代謝拮抗剤と-N(R1)CONH(R2)を結合させるのが好ましい。

[0079] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、水溶液中でポリエチレングリコール類部分を外殻とするミセルを形成していてもよい。ミセルの形成については、ゲルろ過クロマトグラフィー(GPC)法又は動的光散乱法等により確認することができる。

[0080] 本発明において、核酸系代謝拮抗剤が結合していないカルボキシル基を疎水性置換基と結合させることによりミセルを形成しやすくなる。

[0081] 本発明には上記の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分として含む抗腫瘍剤又は抗ウイルス剤も含まれる。該核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体は、そのまま投与することも、又、医薬上許容できる物質と混合した薬学的組成物として投与することもできる。薬学的組成物の剤型は注射剤、粉末剤、顆粒剤、錠剤、坐剤等いかなるものでもよい。又、これらの製剤は医薬用に用いられる種々の補助剤、即ち、担体やその他の助剤、例えば、安定剤、防腐剤、無痛化剤、乳化剤等の添加剤を含有していてもよい。

[0082] 製剤中における核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の含量は製剤により種々異なるが、通常0.1～100重量%、好ましくは1～98重量%である。

[0083] 核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする本発明の抗腫瘍剤の適用は特に限定されないが、例えば、非小細胞肺癌、膵臓癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、乳癌、卵巣癌、膀胱癌、AIDS関連カポジ肉腫等に使用され得る。

[0084] 核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分とする本発明の抗ウイルス剤の適用は特に限定されないが、例えば、後天性免疫不全症候群(AIDS)、带状疱疹、単純ヘルペスウイルス感染症等に使用され、感染予防目的にも使用され得る。



[0085] 本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の投与方法として、経口、注射、直腸内投与、門脈内投与、臓器の灌流液に混合、患部臓器への局所投与等いずれの投与方法でも可能であるが、好ましくは非経口的投与であり、より好ましくは注射による静脈内投与、動脈内投与又は患部臓器への局所投与である。本発明の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の投与量は、病状、投与方法、患者の状態、年齢、体重等により異なるが、通常、核酸系代謝拮抗剤換算で体表面積 $1\text{m}^2$ あたり $1\text{mg}\sim 5000\text{mg}$ 、好ましくは $10\text{mg}\sim 2000\text{mg}$ であり、これを1日1回又は数回に分けて投与してもよい。又、この投与は連日行なうこともできるが、数日から数ヶ月の間をおいて反復投与を行なってもよい。必要に応じて前記以外の投与方法、投与量、投与スケジュールを用いることができる。

[0086] 本発明の高分子誘導体がプロドラッグとして作用する場合も本発明に含まれる。ここで、プロドラッグとは生物学的に活性な親化合物の化学的誘導体であって、投与すると生体内で該親化合物を遊離するものである。

#### 実施例

[0087] 以下に、実施例、参考例及び試験例を示し、本発明を更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらに限定されるものではない。

[0088] 参考例1 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

片末端メキシ基片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(SUNBRIG HT MEPA-12T、日本油脂株式会社製、平均分子量12000、7.74g)をジメチルスルホキシド(160mL)に溶解し、 $\gamma$ -ベンジルーL-グルタメート N-カルボン酸無水物(BLG-NCA、5.1g;ポリエチレングリコールに対して30当量)を加え、 $30^\circ\text{C}$ にて一晩攪拌した。イソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、2.4L)攪拌下に反応液を滴下し、更に1時間攪拌した。析出した沈殿物をろ取し、イソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、400mL)にて洗浄した。得られた生成物(11.50g)をN,N-ジメチルホルムアミド(180mL)に溶解し、無水酢酸(3.45mL)を加えて、 $30^\circ\text{C}$ にて一晩攪拌した。イソプロピルエーテル-酢酸エチル混合溶媒(4:1、1.6L)攪拌下に滴下し、更に1時間攪拌した。析出した沈殿物をろ取し、イソ

プロピルエーテル酢酸エチル混合溶媒(4:1、400mL)にて洗浄した。得られた生成物(11.24g)をN,N-ジメチルホルムアミド(150mL)に溶解し、5%パラジウム炭素(55%含水、1.00g)を加えて、水素雰囲気下室温にて一晩撹拌した。パラジウム炭素をろ別した後、ろ液をイソプロピルエーテル酢酸エチル混合溶媒(4:1、2.5L)撹拌下に滴下し、更に1時間撹拌した。析出した沈殿物をろ取し、イソプロピルエーテル酢酸エチル混合溶媒(4:1、300mL)にて洗浄した。得られた生成物を蒸留水(500mL)に溶解し、1M水酸化ナトリウム水溶液を加えて液性をpH11に調整した。蒸留水を加えて最終液量を1000mLとし、塩化ナトリウム(50g)を加えた。この溶液を吸着樹脂HP-20ss(三菱化学製、250mL)のカラムに通塔し、5%塩化ナトリウム水溶液(1000mL)及び蒸留水(1000mL)にて洗浄後、50%アセトニトリル水溶液(1250mL)にて溶出した。目的物を含む溶出画分を陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、100mL)のカラムに通塔、溶出し、更に50%アセトニトリル水(150mL)にて溶出した。目的物を含む溶出画分を液量が約150mLになるまで減圧下濃縮した後、凍結乾燥して、標記化合物(6.67g)を得た。

水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボキシル基数)は、25.81であった。

- [0089] 参考例2 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1に記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを29.1当量用いることにより、標記化合物を得た。

水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボキシル基数)は、26.72であった。

- [0090] 参考例3 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物の合成

参考例1に記載の方法に従い、ポリエチレングリコールに対してBLG-NCAを30当量用いることにより、標記化合物を得た。

水酸化ナトリウム水溶液を用いた滴定値に基づく本化合物1分子中のグルタミン酸の平均重合数(カルボキシル基数)は、26.70であった。

[0091] 参考例4 分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、L-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約45%)の合成

参考例1に記載の分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(596mg)、L-フェニルアラニンベンジルエステルの塩酸塩(128mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(77  $\mu$  L)をN, N-ジメチルホルムアミド(10mL)に溶解し、DMT-MM(146mg)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、100mL)に滴下した。30分間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(580mg)を得た。

本化合物を加水分解した後、遊離したベンジルアルコールを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して45.94%であった。

#### 加水分解の方法

標記化合物(12.80mg)をメタノール(1.0mL)に溶解し、0.5M水酸化ナトリウム水溶液(1.0mL)を加えて40度にて1時間撹拌した。酢酸にて中和後、蒸留水にて希釈して正確に10mL溶液とした。

#### HPLCの分析条件(ベンジルアルコールの分析)

カラム:YMC Hydrosphere、4.6  $\phi$   $\times$  250mm;

カラム温度:40°C;

溶離液 A液:1%リン酸水溶液、B液:アセトニトリル;

グラジエント:B液%(時間、分)0(0)、0(5)、80(25)、80(35)、stop(35.01);

流速:1mL/分;

検出器(検出波長):UV(210nm)

- [0092] 参考例5 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、L-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約70%)の合成

参考例1に記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(596mg)、L-フェニルアラニンベンジルエステルの塩酸塩(193mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(115  $\mu$ L)をN, N-ジメチルホルムアミド(10mL)に溶解し、DMT-MM(219mg)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、100mL)に滴下した。30分間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(667mg)を得た。

本化合物を参考例4と同様の方法で加水分解した後、遊離したベンジルアルコールを参考例4と同様な条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して69.9%であった。

- [0093] 参考例6 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、4-フェニルブチルブロミドとのエステル結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約40%)の合成

参考例1に記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(1.00g)及び4-フェニルブチルブロミド(161mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(20mL)に溶解し、1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン(DBU、251  $\mu$ L)を加えて40°Cにて

一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1、250mL)に滴下した。30分撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を60%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、4mL)を加え、2時間振とう、樹脂をろ去後、ろ液を凍結乾燥して、標記化合物(1.027g)を得た。

本化合物を参考例4と同様な条件で加水分解した後、遊離した4-フェニルブタノールを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物の4-フェニルブトキシ基の結合率を求めたところ、ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して42.1%であった。

- [0094] 参考例7 分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と4-フェニルブチルブロミドとのエステル結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約60%)の合成

参考例2記載の分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(3.73g)及び4-フェニルブチルブロミド(1.05g)をN,N-ジメチルホルムアミド(91mL)に溶解し、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン(DBU、897 $\mu$ L)を加えて40℃にて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1、1.5L)に滴下した。30分撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、15mL)を加え、2時間振とう、樹脂をろ去した後、ろ液を凍結乾燥して、標記化合物(3.80g)を得た。

本化合物を参考例4と同様な条件で加水分解した後、遊離した4-フェニルブタノールを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物の4-フェニルブトキシ基の結合率を求めたところ、ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して62.3%であった。

- [0095] 参考例8 分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリ

グルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、L-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約30%)の合成

参考例1記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(1000mg)、L-フェニルアラニンベンジルエステルの塩酸塩(147mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(88  $\mu$  L)をN, N-ジメチルホルムアミド(25mL)に溶解し、DMT-MM(167mg)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、250mL)に滴下した。30分間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、4mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(1070mg)を得た。

本化合物を参考例4と同様の方法で加水分解した後、遊離したベンジルアルコールを参考例4と同様な条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して30.8%であった。

[0096] 参考例9 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、L-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約55%)の合成

参考例1に記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(596mg)、L-フェニルアラニンベンジルエステルの塩酸塩(161mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(96  $\mu$  L)をN, N-ジメチルホルムアミド(10mL)に溶解し、DMT-MM(183mg)を加え40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、100mL)に滴下した。30分間撹拌した後、

析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(630mg)を得た。

本化合物を参考例4と同様の方法で加水分解した後、遊離したベンジルアルコールを参考例4と同様な条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して56.8%であった。

[0097] 参考例10 分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、L-フェニルアラニンベンジルエステルとのアミド結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約60%)の合成

参考例3記載の分子量約12000のモノメキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(2.32g)、L-フェニルアラニンベンジルエステルの塩酸塩(770mg)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(460  $\mu$ L)をN, N-ジメチルホルムアミド(40mL)に溶解し、DMT-MM(877mg)を加え40°Cにて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1、450mL)に滴下した。30分間攪拌した後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル－エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、10mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(2.69g)を得た。

本化合物を参考例4と同様の方法で加水分解した後、遊離したベンジルアルコールを参考例4と同様な条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のアミド結合しているPhe-OBzl基の結合率を求めたところポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して60.4%であった。

[0098] 参考例11 分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物と、4-フェニルブチルブロミドとのエステル結合体(ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して約50%)の合成

参考例2記載の分子量約12000のモノメトキシポリエチレングリコールと重合数約26のポリグルタミン酸とのブロック共重合体N-アセチル化物(290mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(7.5mL)に溶解し、4-フェニルブチルブロミド(64mg)、1, 8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン(DBU、75  $\mu$  L)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、100mL)に滴下した。30分撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2mL)を加え、2時間振とう、樹脂をろ去した後、ろ液を凍結乾燥して、標記化合物(305mg)を得た。

本化合物を参考例4と同様な条件で加水分解した後、遊離した4-フェニルブタノールを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物の4-フェニルブトキシ基の結合率を求めたところ、ポリグルタミン酸のカルボキシル基に対して50.4%であった。

[0099] 実施例1 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、L-フェニルアラニンベンジルエステル残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物1)

参考例4で合成した化合物(480mg)及び塩酸ゲムシタビン(125mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(10mL)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(73  $\mu$  L)を加えて40°Cにて撹拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(10.2mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(131  $\mu$  L)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、100mL)に滴下した。30分間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽



イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(453mg)を得た。

本化合物を加水分解した後、遊離したゲムシタビンを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で8.4%(w/w)であった。又、本発明化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

#### 加水分解の方法

標記化合物(11.36mg)をメタノール(1.0mL)に溶解し、0.5M水酸化ナトリウム水溶液(1.0mL)を加えて40℃にて1時間攪拌した。酢酸にて中和後、蒸留水にて希釈して正確に10mL溶液とした。

#### HPLCの分析条件(ゲムシタビンの分析)

カラム:YMC Hydrosphere、4.6φ×250mm;

カラム温度:40℃;

溶離液 A液:1%リン酸水溶液、B液:アセトニトリル;

グラジエント:B液%(時間、分)0(0)、0(5)、80(25)、80(35)、stop(35.01);

流速:1mL/分;

検出器(検出波長):UV(210nm)

また、本化合物におけるゲムシタビンに対するイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基のモル比は重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの<sup>1</sup>H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、0.47であった。

[0100] 実施例2 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、L-フェニルアラニンベンジルエステル残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物2)

参考例5で合成した化合物(567mg)及び塩酸ゲムシタビン(92mg)にN,N-ジメチルホルムアミド(15mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(54μL)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(7.5mg)及びジイソプロピ

ルカルボジイミド(96  $\mu$  L)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、200mL)に滴下した。30分間撹拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(539mg)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で4.0%(w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

[0101] 実施例3 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、4-フェニルブチルアルコール残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物3)

参考例6で合成した化合物(1027mg)及び塩酸ゲムシタビン(285mg)にN,N-ジメチルホルムアミド(20mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(165  $\mu$  L)を加えて40°Cにて撹拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(23.2mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(297  $\mu$  L)を加えて40°Cにて一晩撹拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、200mL)に滴下した。30分間撹拌した後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、4mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(1070mg)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本

発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で9.1% (w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

また、本化合物におけるゲムシタビンに対するイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基のモル比は重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの<sup>1</sup>H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、0.55であった。

[0102] 実施例4 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、4-フェニルブチルアルコール残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物4)

参考例7で合成した化合物(1650mg)及び塩酸ゲムシタビン(300mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(30mL)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(174  $\mu$ L)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(24.4mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(313  $\mu$ L)を加えて40℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、300mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、6mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(1678mg)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で4.9% (w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

また、本化合物におけるゲムシタビンに対するイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基のモル比は重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの<sup>1</sup>H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、0.72であった。

[0103] 実施例5 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがドキシフルリジン残基、水酸基、L-フェニルアラニンベンジルエステル残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物5)

参考例8で合成した化合物(476mg)及びドキシフルリジン(123mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(10mL)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(12.2mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(157  $\mu$ L)を加えて40℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、150mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、3mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(485mg)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したドキシフルリジンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のドキシフルリジン含量を求めたところ、ドキシフルリジン換算で9.0%(w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のドキシフルリジン含量は0.2%以下であった。

また、本化合物におけるドキシフルリジンに対するイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基のモル比は重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの<sup>1</sup>H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、0.76であった。

[0104] 実施例6 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、L-フェニルアラニンベンジルエステル残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物6)

参考例9で合成した化合物(100mg)及び塩酸ゲムシタビン(21mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(2.5mL)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(12.2  $\mu$ L)を加

えて40℃にて攪拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(1.7mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(21.9  $\mu$ L)を加えて40℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、50mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、1mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(63mg)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で6.6%(w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

[0105] 実施例7 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、L-フェニルアラニンベンジルエステル残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物7)

参考例10で合成した化合物(2.50g)及び塩酸ゲムシタビン(415mg)にN,N-ジメチルホルムアミド(45mL)及びN,N-ジイソプロピルエチルアミン(241  $\mu$ L)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(33.8mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(433  $\mu$ L)を加えて40℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、500mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を70%アセトニトリル水に溶解し、透析膜(分画分子量:12000~14000)を用いて、蒸留水(2L×3)にて透析した。透析した溶液を凍結乾燥して、標記化合物(2.45g)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本

発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で6.12% (w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

また、本化合物におけるゲムシタビンに対するイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基のモル比は重水酸化ナトリウム/重水/重アセトニトリルに溶解したものの<sup>1</sup>H-NMR(水素核磁気共鳴スペクトル)から求められ、0.65であった。

[0106] 実施例8 一般式(1)でRがメチル基、Aがアセチル基、mの平均値が26、nの平均値が272、Xがゲムシタビン残基、水酸基、4-フェニルブチルアルコール残基及びイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体(表1の化合物8)

参考例11で合成した化合物(305mg)及び塩酸ゲムシタビン(71mg)にN, N-ジメチルホルムアミド(7.5mL)及びN, N-ジイソプロピルエチルアミン(41  $\mu$  L)を加えて40℃にて攪拌した。溶解後、4-ジメチルアミノピリジン(5.8mg)及びジイソプロピルカルボジイミド(74  $\mu$  L)を加えて40℃にて一晩攪拌した。反応液を室温まで冷却した後、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1、100mL)に滴下した。30分間攪拌後、析出した沈殿物をろ取し、ジイソプロピルエーテル-エタノール混合溶媒(4:1)にて洗浄した。得られた生成物を50%アセトニトリル水に溶解し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W(プロトン型、2.5mL)を加え、2時間室温で振とうした後、樹脂をろ去し、樹脂を50%アセトニトリル水にて洗浄した。得られたろ液を、減圧下1/2容量まで濃縮した後、凍結乾燥して標記化合物(292mg)を得た。

本化合物を実施例1と同様の方法で加水分解した後、遊離したゲムシタビンを実施例1と同様の条件で高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて定量することにより、本発明化合物のゲムシタビン含量を求めたところ、塩酸ゲムシタビン換算で7.9% (w/w)であった。又、本化合物についてHPLCで分析したところ、遊離のゲムシタビン含量は0.2%以下であった。

[0107] 試験例1 酵素非存在下における薬剤放出性試験

実施例1の化合物(図1中では化合物1と表記)、実施例2の化合物(図1中では化合物2と表記)、実施例4の化合物(図1中では化合物4と表記)又は実施例5の化合

物(図1中では化合物5と表記)をリン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)に1.0mg/mLとなるように溶解し、37°Cにて定温放置した。放出されたゲムシタビン及びドキシフルリジン量をHPLCにて経時的に測定し、使用した化合物中の全ゲムシタビン及びドキシフルリジン量に対する放出されたゲムシタビン及びドキシフルリジン量の割合を求めた。結果を図1に示す。本発明の化合物は酵素に依存せずに薬剤が徐放されることが示された。

[0108] 試験例2 マウス血漿中における薬剤放出性

実施例4の化合物(図1中では化合物4と表記)又は実施例5の化合物(図1中では化合物5と表記)を、リン酸緩衝生理食塩水(pH7.4)に溶解した後、マウスより採血・調製した血漿を4倍量(v/v)加えて、37°Cにて定温放置した。50  $\mu$ Lずつを経時的に取り、50%メタノール水(450  $\mu$ L)にて希釈した。メンブランフィルター(孔径0.45  $\mu$ m)にて除タンパク処理した後、本発明化合物より放出されたゲムシタビン量をHPLCにて経時的に測定し、本発明化合物中の全ゲムシタビン量に対する、放出されたゲムシタビン量の割合を求めた。結果を図2に示す。

[0109] 試験例1及び試験例2の結果を比較すると、本発明の化合物が、マウス血漿中においては、酵素非存在下の場合よりも、薬剤放出率が高いものの、マウス血漿中においても高分子誘導体として、長時間滞留し、薬剤を放出していることが伺える。

[0110] 試験例3 担癌マウスに対する抗腫瘍効果(1)

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26腫瘍塊を約2ミリメートル角のブロックにし、套管針を用いてマウス皮下に移植した。腫瘍移植後7日目に実施例1の化合物(表2中では化合物1と表記)、及び実施例2の化合物(表2中では化合物2と表記)を生理食塩水で、対照薬としての塩酸ゲムシタビンを5%ブドウ糖注射液にて溶解し、表2に示す投与量で静脈内に単回投与した。投与開始日及び投与開始後7日目の腫瘍体積を下記式により算出し、投与開始日に対する投与開始後7日目の相対腫瘍体積を求めた。結果を表2に示す。

[0111] [数1]

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = \frac{[\text{腫瘍の長径(mm)}] \times [\text{腫瘍の短径(mm)}] \times [\text{腫瘍の短径(mm)}]}{2} \quad (1)$$

[0112] [表2]

表 2

薬剤	投与量 (塩酸ゲムシタビン換算) (mg/kg)	相対腫瘍体積*
無処置	0	10.5 ± 5.0
化合物1	80	0.2 ± 0.1
	40	3.5 ± 0.7
化合物2	80	0.3 ± 0.1
	40	8.6 ± 3.8
対照薬	200	3.4 ± 0.6
	100	3.9 ± 0.5

\*薬剤投与開始日の腫瘍体積を1.0としたときの  
投与開始後7日目の平均相対腫瘍体積(平均±SD)

この結果、本発明の化合物は、対照薬である塩酸ゲムシタビンと比較して低投与量で同等以上の抗腫瘍効果を有することが明らかである。

[0113] 試験例4 担癌マウスに対する抗腫瘍効果(2)

マウス皮下で継代しているマウス大腸癌Colon26腫瘍塊を約2ミリメートル角のブロックにし、套管針を用いてマウス皮下に移植した。腫瘍移植後7日目に実施例3の化合物(表3中では化合物3と表記)、及び実施例4の化合物(表3中では化合物4と表記)を生理食塩水で、対照薬としての塩酸ゲムシタビンを5%ブドウ糖注射液にて溶解し、表3に示す投与量で静脈内に単回投与した。投与開始日及び投与開始後8日目の腫瘍体積を試験例3と同様に算出し、投与開始日に対する投与開始後8日目の相対腫瘍体積を求めた。結果を表3に示す。

[0114] [表3]



表 3

薬剤	投与量 (塩酸ゲムシタビン換算) (mg/kg)	相対腫瘍体積*
無処置	0	10.3 ± 2.9
化合物3	60	0.4 ± 0.5
	40	5.1 ± 0.4
化合物4	60	0.7 ± 0.5
	40	5.4 ± 1.3
対照薬	200	4.8 ± 1.7
	40	5.3 ± 1.1

\*薬剤投与開始日の腫瘍体積を1.0としたときの  
投与開始後8日目の平均相対腫瘍体積(平均±SD)

この結果、本発明の化合物は、対照薬である塩酸ゲムシタビンと比較して低投与量で同等以上の抗腫瘍効果を有することが明らかである。

#### 図面の簡単な説明

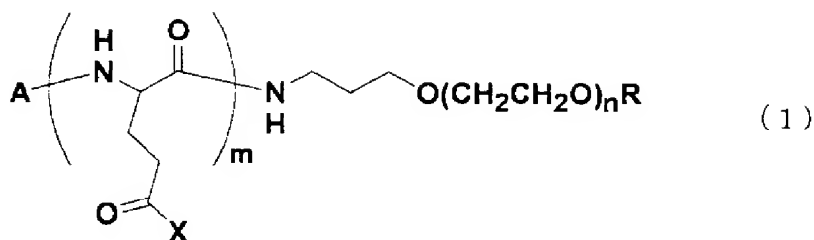
[0115] [図1]酵素非存在下における薬剤放出の経時変化を示す。◆は化合物1、■は化合物2、△は化合物4、×は化合物5をそれぞれ表す。

[図2]マウス血漿中における薬剤放出の経時変化を示す。△は化合物4、×は化合物5をそれぞれ表す。

## 請求の範囲

- [1] ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸系代謝拮抗剤の水酸基とがエステル結合していることを特徴とする核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [2] 側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分がポリグルタミン酸誘導体である請求項1に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [3] 核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体が下記一般式(1)：

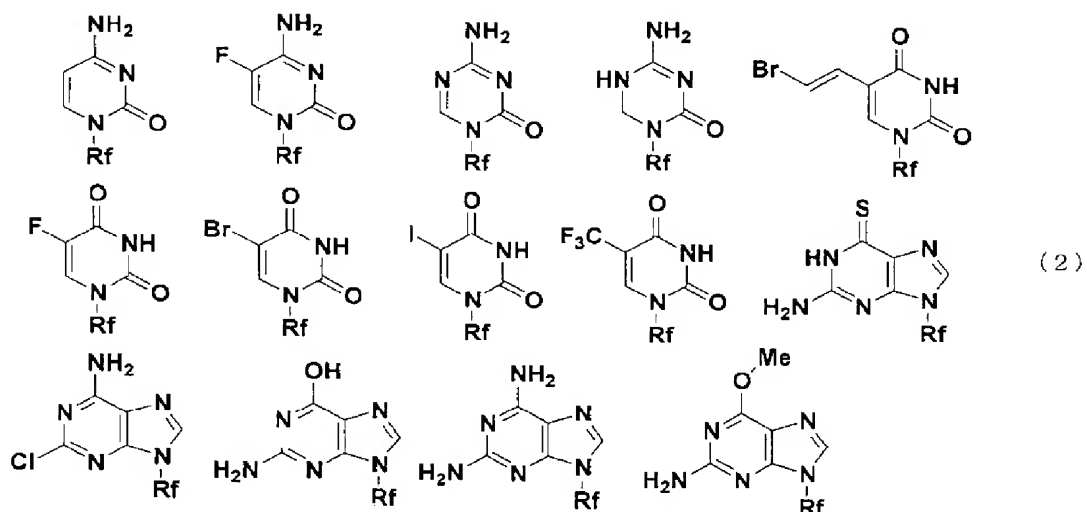
[化7]



- [式中、Rは水素原子又はC1～C6アルキル基を示し、Aは水素原子、C1～C6アシル基又はC1～C6アルコキシカルボニル基を示し、mは平均値で3～200、nは平均値で5～2000を示し、Xは核酸系代謝拮抗剤残基、水酸基、疎水性置換基、及び－N(R1)CONH(R2) (R1、R2は同一でも異なってもよく3級アミノ基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基)からなる群から選ばれ、核酸系代謝拮抗剤残基及び－N(R1)CONH(R2)を含む基である請求項1又は2に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [4] mのうち5～95%はXが核酸系代謝拮抗剤残基、0～95%はXが水酸基、0～80%はXが疎水性置換基、5～80%はXが－N(R1)CONH(R2)である請求項3に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [5] mのうち5～70%はXが核酸系代謝拮抗剤残基、5～70%はXが水酸基、20～70%はXが疎水性置換基、5～70%はXが－N(R1)CONH(R2)である請求項3に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。
- [6] RがC1～C4アルキル基であり、AがC2～C4アシル基であり、mが平均値で5～10

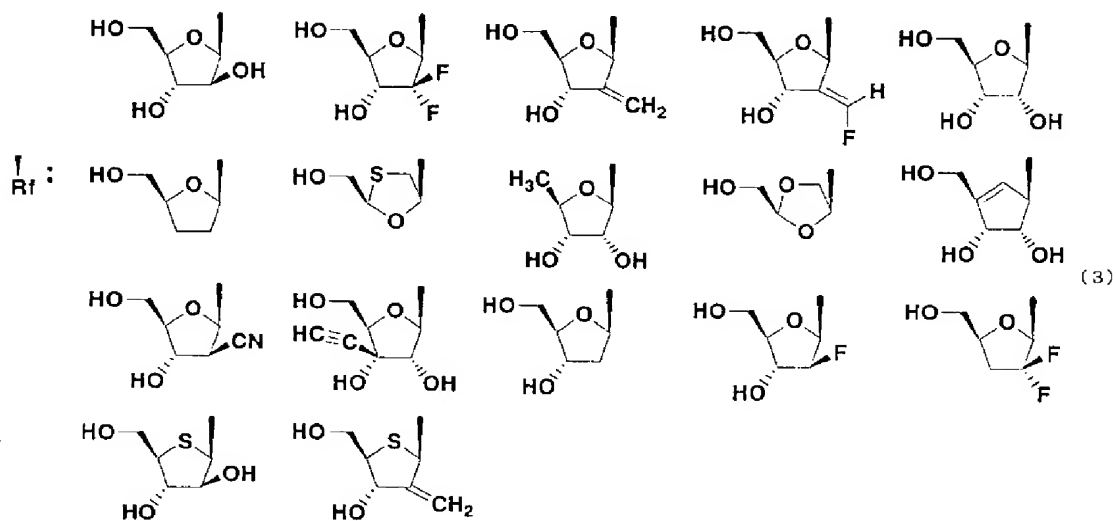
0、nが平均値で50～1000であり、核酸系代謝拮抗剤残基が式(2)：

[化8]



[式中、-Rfは、式(3)：

[化9]



の置換基群より選ばれる基を示す]

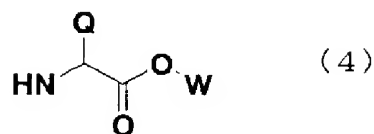
で表されるいずれかの核酸系代謝拮抗剤の残基である請求項3～5のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

[7] Rがメチル基、Λがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、核酸系代謝拮抗剤残基がゲムシタビン又はドキシフルリジン残基である請

求項6に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [8] 疎水性置換基が一般式(4)：

[化10]



[式中、Qは中性アミノ酸の側鎖を示し、WはC1～C6アルキル基又はベンジル基を示す]

で表されるα-アミノ酸誘導体である請求項3～7のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [9] Qがイソプロピル基又はベンジル基であり、Wがベンジル基である請求項8に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [10] 疎水性置換基が一般式(5)：

[化11]



[式中、Tはフェニル基で置換されていてもよいC1～C6アルキル基を示す]

で表される基である請求項3～7のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [11] Tがベンジル基、3-フェニルプロピル基、4-フェニルブチル基又は5-フェニルペンチル基である請求項10に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

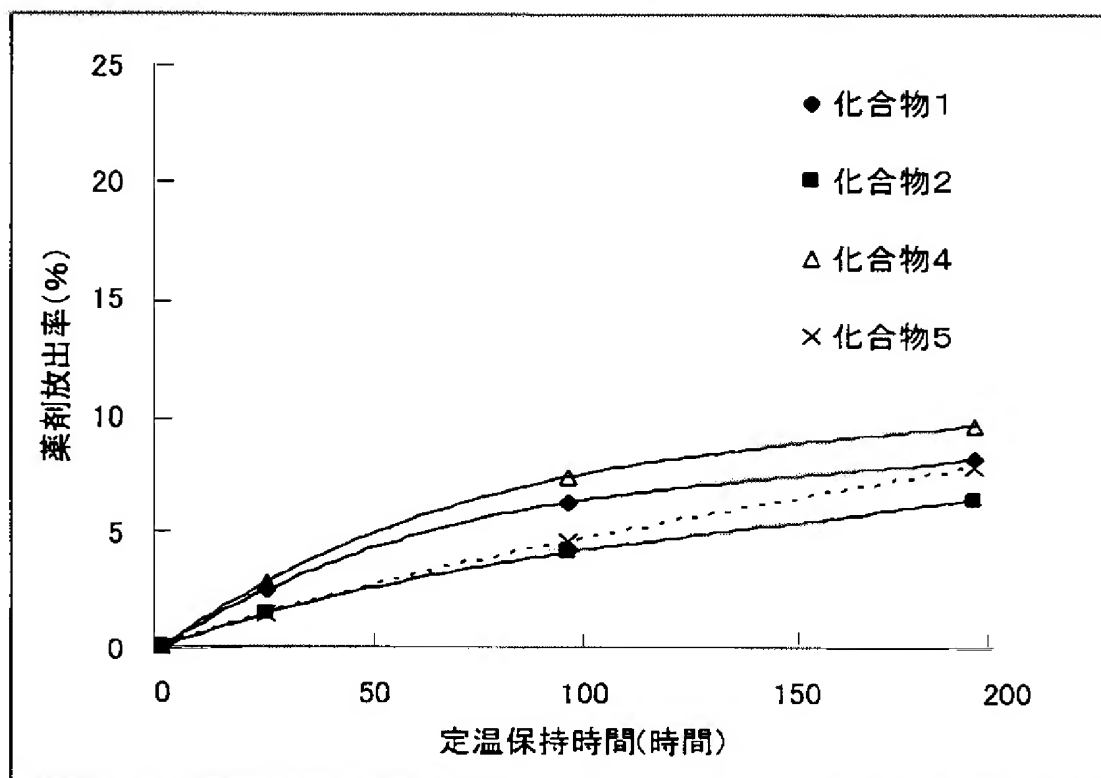
- [12] Rがメチル基、Aがアセチル基であり、mが平均値で10～60、nが平均値で100～300であり、核酸系代謝拮抗剤残基がゲムシタビン残基であり、疎水性置換基が4-フェニルブトキシ基又は(1-ベンジルオキシカルボニル-2-フェニル)エチルアミノ基であり、-N(R1)CONH(R2)がイソプロピルアミノカルボニルイソプロピルアミノ基である請求項3に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [13] ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸代謝拮抗剤とを有機溶媒中カル

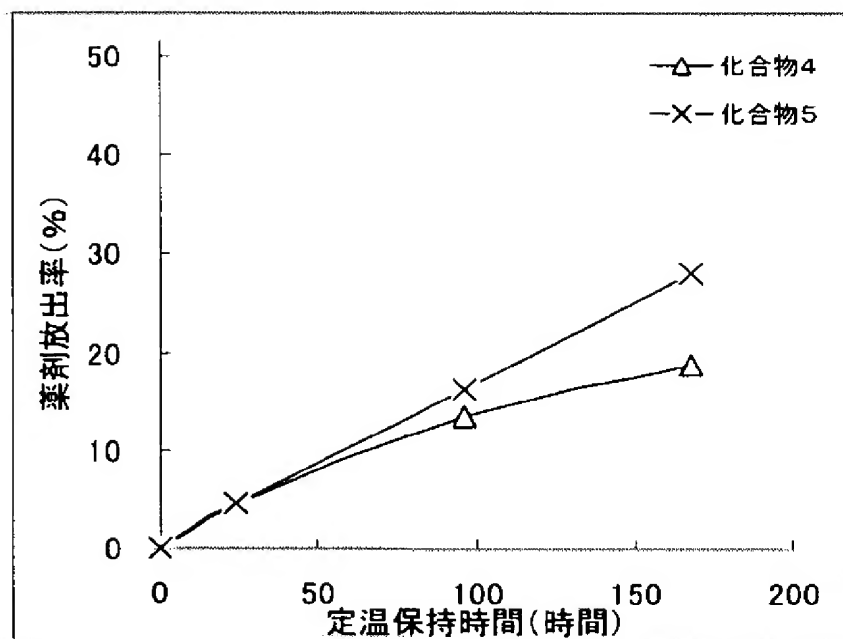
ボジイミド系の縮合剤を用いてエステル結合させることで得られる、核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体。

- [14] 請求項1～13のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分として含む抗腫瘍剤。
- [15] 請求項1～13のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体を薬効成分として含む抗ウイルス剤。
- [16] ポリエチレングリコール類部分及び側鎖にカルボキシル基を有するポリマー部分からなる高分子化合物の側鎖のカルボキシル基と、核酸代謝拮抗剤のヌクレオシド誘導体とを、有機溶媒中カルボジイミド系の縮合剤を用いてエステル結合させることを特徴とする請求項1～12のいずれか一項に記載の核酸系代謝拮抗剤の高分子誘導体の製造法。

[図1]



[図2]



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/071305

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08G69/48(2006.01)i, A61K31/787(2006.01)i, A61P31/12(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C08G69/10(2006.01)i, C08G69/40(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C08G69/00-69/50, C08G81/00-85/00, A61K31/787, A61P31/12, A61P35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2008	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2008

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2005-519122 A (Beijing Jiankai Technology Co., Ltd.), 30 June, 2005 (30.06.05), Claims; Par. Nos. [0012], [0015], [0016], [0036], [0042] to [0046], [0057] & WO 2003/0074586 A1 & CN 1442440 A & AU 2003221208 A1 & EP 1489125 A1 & US 2005/147617 A1	1, 2, 13, 14, 16

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
18 January, 2008 (18.01.08)

Date of mailing of the international search report  
29 January, 2008 (29.01.08)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2007/071305

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2-300133 A (Research Development Corp. of Japan), 12 December, 1990 (12.12.90), Claims; page 2, lower left column, line 14 to lower right column, line 7; page 3, lower left column, line 9 to lower right column, line 15; page 4, upper right column, lines 1 to 7 & EP 0397307 A2 & AU 9054699 A & CA 2016505 A & US 5412072 A & JP 08-310970 A & US 5693751 A	1-16
A	WO 2004/039869 A1 (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 13 May, 2004 (13.05.04), Claims; page 1, line 7 to page 4, line 10; page 9, lines 4 to 9; page 17, line 14 to page 18, line 4; page 20, lines 4 to 19; page 21, line 17 to page 22, line 8; page 33, lines 7 to 14 & AU 2003280592 A1 & EP 1580216 A1 & TW 200418906 A & US 2006/067910 A1 & CN 1708540 A & KR 2005070103 A	1-16
A	US 2002/0099013 A1 (NEW RIVER PHARMACEUTICALS INC.), 25 July, 2002 (25.07.02), Fig. 4; page 14 & JP 2005-524677 A & WO 2003/079972 A2	1-16
P,X	WO 2006/120914 A1 (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 16 November, 2006 (16.11.06), Claims; Par. Nos. [0002] to [0004], [0007], [0015], [0062], [0063], [0068], [0074] (Family: none)	1,2,13-16
P,A	WO 2007/111211 A1 (Nippon Kayaku Co., Ltd.), 04 October, 2007 (04.10.07), Claims; Par. Nos. [0008], [0033], [0038], [0039], [0042] to [0050] (Family: none)	1-16



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))			
Int.Cl. C08G69/48(2006.01)i, A61K31/787(2006.01)i, A61P31/12(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, C08G69/10(2006.01)i, C08G69/40(2006.01)i			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))			
Int.Cl. C08G69/00-69/50, C08G81/00-85/00, A61K31/787, A61P31/12, A61P35/00			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2008年 日本国実用新案登録公報 1996-2008年 日本国登録実用新案公報 1994-2008年			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)			
CAplus (STN), REGISTRY (STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
X	JP 2005-519122 A (北京鍵▲凱▼科技有限公司) 2005.06.30, 【特許請求の範囲】、【0012】、【0015】、【0016】、【0036】、【0042】—【0046】、【0057】 & WO 2003/0074586 A1 & CN 1442440 A & AU 2003221208 A1 & EP 1489125 A1 & US 2005/147617 A1	1, 2, 13, 14, 16	
A	JP 2-300133 A (新技術開発事業団) 1990.12.12, 特許請求の範囲、第2頁左下欄第14行—右下欄第7行、第3頁左下欄第9行—右下欄第15行、第4頁右上欄第1行—第7行 & EP 0397307 A2 & AU	1-16	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 18.01.2008		国際調査報告の発送日 29.01.2008	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (I S A / J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 大熊 幸治 電話番号 03-3581-1101 内線 3457	4 J 3639

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	9054699 A & CA 2016505 A & US 5412072 A & JP 08-310970 A & US 5693751 A	
A	WO 2004/039869 A1 (日本化薬株式会社) 2004. 05. 13, 請求の範囲、第 1 頁第 7 行—第 4 頁第 1 0 行、第 9 頁第 4 行—第 9 行、第 1 7 頁第 1 4 行—第 1 8 頁第 4 行、第 2 0 頁第 4 行—第 1 9 行、第 2 1 頁第 1 7 行—第 2 2 頁第 8 行、第 3 3 頁第 7 行—第 1 4 行 & AU 2003280592 A1 & EP 1580216 A1 & TW 200418906 A & US 2006/067910 A1 & CN 1708540 A & KR 2005070103 A	1-16
A	US 2002/0099013 A1 (NEW RIVER PHARMACEUTICALS INC.) 2002. 07. 25, Figure 4, p. 14 & JP 2005-524677 A & WO 2003/079972 A2	1-16
P, X	WO 2006/120914 A1 (日本化薬株式会社) 2006. 11. 16, 請求の範囲、【0002】—【0004】、【0007】、【0015】、【0062】、【0063】、【0068】【0074】 (ファミリーなし)	1, 2, 13-16
P, A	WO 2007/111211 A1 (日本化薬株式会社) 2007. 10. 04, 請求の範囲、【0008】、【0033】、【0038】、【0039】、【0042】—【0050】 (ファミリーなし)	1-16